

胡椒의 지방세포 억제 효과

정흥석 · 정지천*

동국대학교 한의과대학 내과학교실

Anti-adipogenic Effect of *Piper Nigrum* Linne

Hong Suk Jeong, Ji Cheon Jeong*

Department of Internal Medicine, College of Korean Medicine, Dongguk University

Piper nigrum Linne has been used spice as well as herbal medicine in worldwide and has function of anti-oxidant, anti-inflammation, anti-cancer, bioavailability of drugs and etc. In this study, anti-adipogenic activity of *Piper nigrum* Linne extract and its constituent piperine were investigated in 3T3-L1 differentiation. Adipogenic effects and lipid accumulation in 3T3-L1 was measured by RT-PCR and Oil Red O staining assays respectively in stimulation of *Piper nigrum* Linne extract and piperine. *Piper nigrum* Linne and piperine reduced lipid accumulation in 3T3-L1 differentiation and expression of genes associated with adipogenesis such as PPAR γ , adiponin, SERBP-1c and LPL. All of taken, anti-adipogenic mechanism of *Piper nigrum* Linne and piperine were related with regulation of SREBP-1c and PPAR γ expression.

Key words : *Piper nigrum* Linne, piperine, adipogenesis, 3T3-L1 differentiation, PPAR γ , SREPB-1c

서 론

지질대사는 우리 몸의 에너지의 저장 및 분배, 당대사 조절, 에너지 항상성을 유지하는데 매우 필수적인 작용이며, 지질대사에 이상이 생기면 비만, 당뇨, 고지혈증 등의 증상이 나타나는 원인이 될 수 있다. 이러한 지질대사는 주로 간과 지방조직에서 일어나며, 지방조직에서는 조직을 구성하는 지방세포에 의해 조절된다. 지방조직은 단순히 에너지를 지방의 형태로 저장하는 기능뿐만 아니라 지방세포에서 분비하는 생체 호르몬을 통하여 체내 에너지대사를 조절하는 것으로 알려져 있어 당뇨, 고지혈증, 동맥경화 등의 질병 연구에 있어 그 중요성이 매우 크다. 또한 지방세포 (adipocyte)는 지방전구세포 (preadipocyte)가 분화되어 만들어지므로 지방세포 형성 (adipogenesis)의 기전 연구 또한 지방조직의 역할을 이해하는데 매우 중요하다¹⁻³⁾.

한의학에서 비만은 肥, 肥人, 肥貴人, 肥膚盛, 肥胖 등⁴⁾으로 표현되고 있다. 先天稟賦, 飲食失調, 久臥久坐, 七情 등의 원인으로 濕, 痰, 氣虛, 氣滯 및 瘀血 등이 유발되어 발생하므로, 약물 치료에는 化濕, 祛痰, 利水, 補氣, 健脾, 通腑, 行氣 및 化痰 등의

치법이 활용되고 있다⁵⁻⁷⁾.

胡椒 (*Piper nigrum* Linne)는 후추과 (Piperaceae)인 후추나무의 과실을 말린 것으로 미성숙 과실인 흑후추 (黑胡椒, black pepper)는 세계적으로 많이 사용되는 향신료이다^{8,9)}. 한의학에서는 溫中除寒下氣 快膈消痰 解毒 등의 효능으로 寒痰食積 脘腹冷痛 癰亂吐瀉 腸滑冷痢 등의 치료에 활용되어 왔다¹⁰⁾.

胡椒는 여러 종류의 phytochemicals을 함유하고 있는데 이들을 통하여 약리 효능을 나타낸다. 그 대표적인 물질이 alkaloid-amine 성분인 piperine이며 효과에 대한 많은 연구들이 진행되고 있다. 胡椒와 piperine은 위벽을 자극하여 위산의 분비를 조절하며, 장의 운동을 향상시켜 장에서 아미노산 (amino acid)의 흡수를 향상시키며, 설사 억제 (anti-diarrhoea) 기능을 한다. 또한 약물대사 기작을 억제하여 약물의 생체내 이용 효율 (bioavailability)을 증가시켜 약물의 효능을 도와주며, 항염증, 항암, 항산화, 살충, 진통 등의 효과가 있음이 보고되어 있고, 지질대사 (lipid metabolism)에 영향을 준다는 보고들이 있다¹¹⁻¹⁸⁾. 그리고 胡椒 추출물이 당뇨병 유발 쥐의 혈액 내 지질 및 당 함량을 감소시키고¹⁹⁾, 그 구성 성분이며 활성물질인 piperine 또한 혈액 내 지질 및 당 함량과 혈압을 감소시킨다는 보고들이 있어 체내 지질대사 조절과 밀접한 연관이 있음을 시사한다^{12,20,21)}.

본 연구에서는 胡椒추출물이 지방세포 분화 (adipocyte

* 교신저자 : 정지천, 경주시 석장동 1090-1 동국대학교 경주한방병원 2내과

· E-mail : jjch@paran.com, · Tel : 054-770-1265

· 접수 : 2010/01/19 · 수정 : 2010/02/01 · 채택 : 2010/02/09

differentiation)의 억제 효과가 있고, 그 효능이 胡椒추출물의 활성 성분 중 하나인 piperine에 의해 일어난다는 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고한다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약제

胡椒를 시중 (태원당약업사, 대구, 대한민국)에서 구입하고 정선하여 사용하였다.

2) 시약

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT), Oil-red-O Dexamethasone, 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX), insulin, Piperine, Dimethylsulfoxide (DMSO)는 Sigma (ST. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. FBS (Fetal bovine serum), BS(Bovine serum)는 GIBCO (Grand Island, NY) 제품을 사용하였다.

2. 방법

1) 검액의 조제

胡椒 300 g을 잘게 분쇄하고 3배 량의 95% methanol을 가하여 60℃에서 중탕으로 24시간씩 3회 반복 추출하여 추출액을 얻었다. 이 추출액을 실온으로 냉각시키고 여지로 여과한 다음 여액을 회전 감압농축기를 사용하여 건조시켜 추출물 12.97 g (수율 4.32%)을 얻어 실험에 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

2) 세포배양 및 분화 유도

3T3-L1 세포는 heat inactivation한 10% (v/v) bovine serum, antibiotics/antimycotics (Invitrogen)를 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)에 혼합하여 5% CO₂, 37℃ 조건에서 배양하였다. 3T3-L1 세포의 분화 유도는 6 well plate에서 100%로 자란 세포를 2일간 더 배양하고, 100 mM IBMX, 5 µg/ml insulin, 0.5 µM dexamethasone, heat inactivation된 10% FBS가 첨가된 배지에서 2일간 배양한 후, 5 µg/ml insulin, antibiotics/antimycotics (Invitrogen), 10% FBS가 첨가된 배지를 2일마다 교체하며 배양하여 6-10일 후 실험에 사용하였다. 胡椒추출물, Piperine, DMSO는 분화 유도와 함께 처리하여 2일마다 배지 교체 시에 지속적으로 처리하였다.

3) MTT assay

3T3-L1 세포를 500 cells/well의 농도로 96 well plate에 분주한 후 胡椒추출물을 농도 별로 처리하여 72시간 동안 배양하였다. PBS에 녹인 MTT (2 mg/ml) 50 µl를 처리하였고, 4시간 후 배지를 제거하고, 150 µl의 DMSO를 well에 넣어준 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4) Oil-Red-O staining

분화가 진행된 3T3-L1 세포를 PBS로 2회 세척하고, PBS에 용해된 10% formalin 용액 2 ml를 사용하여 실온에서 5분간 고정하고, 용액을 제거한 후에 다시 1시간 동안 고정하였다. formalin 용액을 제거하고 60% isopropanol로 세척한 후 실온에

서 말렸다. Oil Red O working solution을 가하여 10분간 반응시킨 후 DW를 이용하여 5회 세척하였다. 염색된 세포는 현미경 사진을 찍었고, 100% isopropanol을 가하여 세포 내에 축적된 lipid를 용출하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5) RNA extraction and Reverse-transcription and PCR

RNA는 TRIzol reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA)를 사용하여 분리하였고, 1 mg의 RNA를 MMLV reverse transcriptase와 random oligo (dT) primers (invitrogen)를 이용하여 역전사 반응을 진행하여 cDNA를 준비하였다. PCR은 cDNA를 주형으로 하여 다음의 primers를 이용하여 진행하였다.

LPL	5'-ATCCATGGATGGACGGTAACG-3' 5'-CTGGATCCCAATACTTCGACCA-3'
adipsin	5'-CCTGAACCCCTACAAGCGATG-3' 5'-GGTCCACTTCTTTGTCCTCG-3'
PPAR γ	5'-TTTCAAGGGTGCCAGTTTCAATCC-3' 5'-AATCTTGGCCCTCTGAGAT-3'
GAPDH	5'-CTGCACCACCAACTGCTTAGC-3' 5'-GGGCCATCCACAGTCTTCTGG-3'

증폭된 PCR product는 1.5% agarose gel 전기영동을 진행하였고, chemiluminescent detection system (ChemiDoc XRS system, Bio-Rad Laboratories, USA)을 이용하여 사진을 얻고 분석하였다.

결 과

1. 胡椒추출물의 세포 독성 측정

3T3-L1 세포에 대한 胡椒추출물의 독성을 측정하였다. DMSO 대조군, 1.0, 2.0, 10.0, 50.0, 100.0, 200.0, 500.0 µg/ml 농도의 胡椒추출물을 3T3-L1 세포에 3일 동안 처리한 결과 세포 성장을 50% 수준으로 억제하는 농도는 82.2 µg/ml로 나타났고, 세포 성장에 큰 영향을 주지 않는 60 µg/ml 농도에서 분화 조건을 결정하였다(Fig. 1).

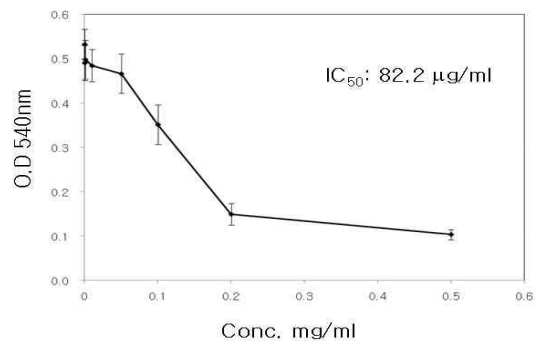


Fig. 1. Cytotoxicity of *Piper nigrum* Linne (Pip) extract on 3T3-L1 cells. Cells were exposed indicated concentration of Pip extract for 72hour. Data displayed reflect the mean±SEM of three independent experiments.

2. 胡椒추출물의 지방 축적 억제 효과

胡椒추출물이 3T3-L1 세포의 분화에 영향을 주는지 확인하

기 위하여 실험을 진행하였다. 胡椒 추출물은 분화 신호 (dexamethasone, IBMX and insulin)와 함께 60 µg/ml의 농도로 6일 동안 처리하였고, Oil Red O (ORO) 염색을 통하여 세포 내 지방 축적 정도를 확인하였다. 胡椒 추출물을 처리했을 경우 3T3-L1 세포내의 지방 축적이 현저히 감소되어 있음을 확인하였다(Fig. 2A, 2B).

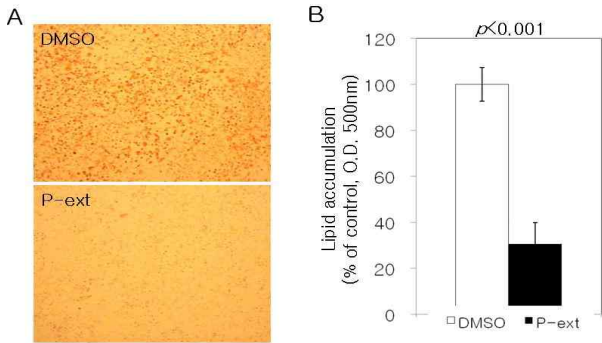


Fig. 2. *Piper nigrum* Linne (Pip) extract and its component kaempferol reduces triglyceride accumulation in 3T3-L1 differentiation. 3T3-L1 cells were differentiated and treated with DMSO, Pip extract (60 µg/ml). 6 days following differentiation, lipid droplets in cells were stained with Oil Red O (A), eluted and measured (B). Data displayed reflect the mean±SEM of three independent experiments.

3. Piperine의 지방 축적 억제 효과

胡椒의 지방축적 억제 효능이 piperine에 의한 효과인지 확인하였다. 추출물의 독성실험 결과에 비해 piperine은 200 µM 농도에서도 큰 독성을 나타내지 않았고, ORO assay 결과 지방축적 억제 효과가 50 µM 이상의 농도에서는 현저히 감소하지 않았기 때문에 가장 효율적인 50 µM의 농도 조건으로 분화 신호와 함께 10일간 처리하여 ORO 염색을 진행하였다. 실험 결과 piperine도 세포내의 지방 축적을 감소시켰다(Fig. 3A, 3B).

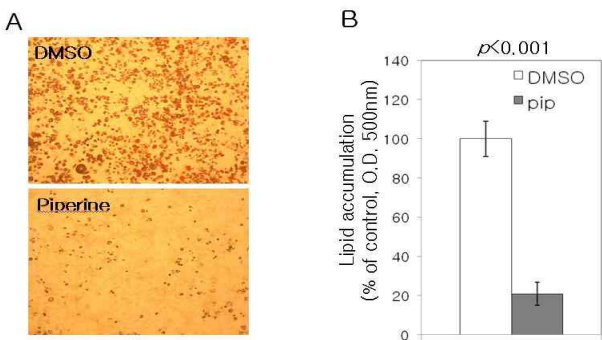


Fig. 3. Piperine reduces triglyceride accumulation in 3T3-L1 differentiation. 3T3-L1 cells were differentiated and treated with DMSO, piperine (pip, 50 µM). 10 days following differentiation, lipid droplets in cells were stained with Oil Red O (A), eluted and measured (B). Data displayed reflect the mean±SEM of three independent experiments.

4. 胡椒추출물의 지방세포 분화 억제 효과

3T3-L1 세포의 지방 축적 감소는 분화되는 세포의 수에 비례하므로, 지방세포의 분화수준을 알아보기 위하여 지방세포 특이적인 유전자의 발현 수준을 측정하였다. Fig. 2의 조건으로

3T3-L1 세포의 분화를 진행한 후 세포의 전체 RNA를 추출하여 mRNA 발현 수준을 RT-PCR을 통하여 확인한 결과 PPAR γ , Adipsin, Sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c), lipoprotein lipase (LPL)의 발현 수준이 감소되어 있음을 확인하였다(Fig. 4A, 4B).

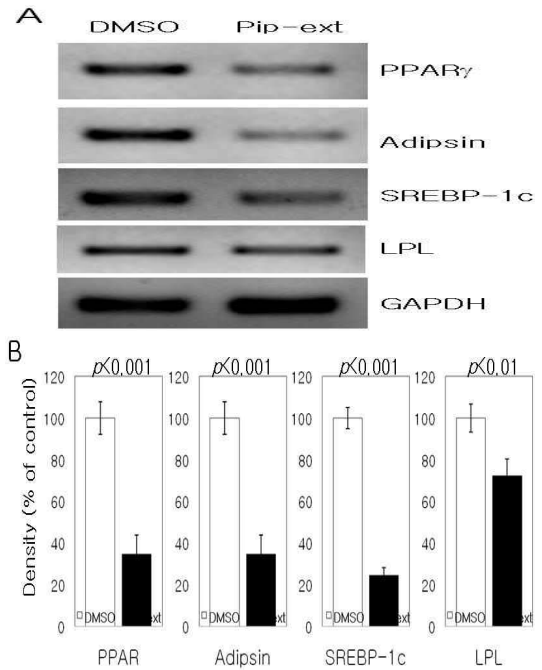
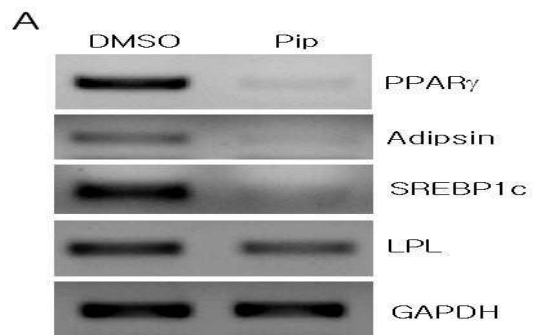


Fig. 4. *Piper nigrum* Linne (Pip) extract reduces expression of PPAR γ , Adipsin, SREBP-1c and LPL in 3T3-L1 cell differentiation. 3T3-L1 cells were differentiated and treated with DMSO and Pip extract (60 µg/ml) (A). 6 days following differentiation, the mRNA expression of PPAR γ , Adipsin, SREBP-1c and LPL were monitored by RT-PCR (A). The expression of mRNA level was quantified by chemiluminescent detection system (B) Data displayed reflect the mean±SEM of three independent experiments.

5. Piperine의 지방세포 분화 억제 효과

50 µM 농도의 piperine 조건에서도 지방세포 특이적인 유전자의 발현 수준을 확인하였다. Fig. 3의 조건으로 세포의 분화를 진행한 후 전체 RNA를 추출하여 mRNA 발현 수준을 RT-PCR을 통하여 확인하였다. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ), Adipsin, SREBP-1c, LPL의 mRNA 발현 수준이 DMSO 대조군에 비하여 현저히 감소하였음을 확인하였다(Fig. 5A, 5B).



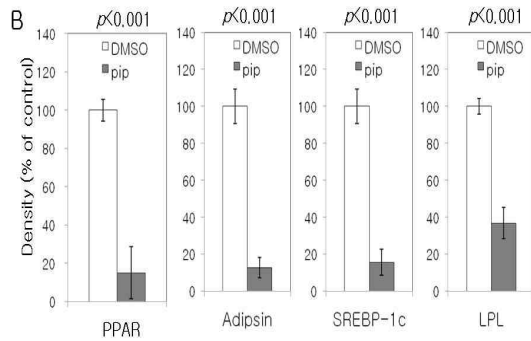


Fig. 5. Piperine reduces expression of PPAR γ , Adipsin, SREBP-1c and LPL in 3T3-L1 cell differentiation. 3T3-L1 cells were differentiated and treated with DMSO and piperine (pip, 50 μ M). 10 days following differentiation, the mRNA expression of PPAR γ , Adipsin, SREBP-1c and LPL were monitored by RT-PCR (A). The expression of mRNA level was quantified by chemiluminescent detection system (B) Data displayed reflect the mean \pm SEM of three independent experiments.

고찰

胡椒는 세계적으로 널리 사용되는 향신료 중의 하나이다. 미성숙 과실을 이용할 경우 흑후추 (黑胡椒, black pepper)와 성숙한 과실을 이용할 경우 백후추 (白胡椒, white pepper)로 구분되는데, 현대에는 흑후추가 일반적으로 사용되는 향신료로 인식되고 있다^{8,9}. 한의학에서는 藥性이 熱하고 肺, 胃, 大腸經에 歸經하여 溫中除寒下氣 快膈消痰 解毒 등의 효능으로 寒痰食積 脘腹冷痛 癰亂吐瀉 腸滑冷痢 등의 치료에 활용되고 있다¹⁰.

胡椒의 약리 작용은 함유되어 있는 alkaloid-amine 성분들에 의해 이루어지는데, 현재까지 여러 종류의 alkaloid-amine 성분들이 보고되어 연구되고 있다^{22,23}. Piperine은 胡椒의 구성 물질 가운데 특 쓰는 맛을 내는 원료 (pungent principle)로 많이 알려져 있고 연구되고 있는 활성성분으로서 다양한 효능을 갖는다. Piperine은 위장을 자극하여 위산과 펩신의 분비를 촉진시키고, 소장과 췌장에 작용하여 담즙 (bile)과 리파아제 (lipase)의 분비를 증가시켜 지방의 소화 흡수를 돕는다. 또한 약물대사 효소를 억제하여 약물의 체내 이용 효율을 증가시키며, 백반증의 치료에 효과적으로 작용하고, 항산화, 항 돌연변이물질, 항암, 항염증 작용에 관여하는 등 매우 광범위한 효능을 가지고 있어 다양한 분야에서 연구들이 많은 연구들이 진행되고 있다^{11-14,22-25}.

Piperine은 항산화 효능을 통해 지질대사에도 영향을 미친다. Piperine은 diacylglycerol acyltransferase (DGAT)를 억제하여 triglyceride (TG)의 합성을 저해한다²³. 또 항산화작용을 통하여 lipidperoxidation을 저해하여 세포를 보호하며²⁵, 자유라디칼을 제거하여 과콜레스테롤혈증 (hypercholesterolemia) 유도 쥐의 혈중콜레스테롤 수준을 감소시키며, 적혈구의 세포막의 유동성을 증가시켜 세포의 기능을 도와주고, 혈액내의 당 함량을 감소시킨다. 지질 식품을 섭취하면 자유라디칼 (free radical)이 증가하고, 그로 인해 산화 스트레스가 증가하게 되면 과콜레스테롤혈증이 일어날 수 있고, piperine은 이러한 병리 증상을 완화시킨다^{12,26}. 이러한 연구 결과들은 piperine이 체내의 지질대사에 밀접하게 연관되어 있으며, 체내 지방조직의 기능에도 영향을 줄

가능성을 제시한다.

지방세포 분화 과정에 미치는 영향을 검토한 실험에서 胡椒와 그 활성물질인 piperine은 세포내의 lipid 축적과 분화를 억제하는 효과를 나타내었다(Fig. 2, 3).

지방전구세포에서 지방세포로 분화가 이루어지면 지방세포 특이적인 유전자의 발현이 나타난다. 성숙된 지방세포에서 발견되는 지방세포 분화 표적 유전자인 adipsin과 LPL의 발현에 미치는 영향을 검토한 실험에서 胡椒와 piperine을 처리한 경우에 그 발현이 감소됨을 확인하였다(Fig. 4, 5).

한편, PPAR γ 와 SREBP-1c는 지방세포 분화에서 증추적인 역할을 하는 전사인자로서, 지방세포의 분화 진행 및 유지에 매우 중요한 유전자이다. 이 유전자들은 각각 표적 유전자인 adipsin과 LPL의 발현을 조절하는 기전을 가지고 있는데^{27,28}, 그 발현이 胡椒추출물과 piperine에 의해 분화 과정 중에서 감소되어 있는 것으로 나타났다(Fig. 4, 5). 지방전구세포의 지방세포 분화 억제는 비만 억제 효과와 밀접한 관련이 있다. 이 결과들은 胡椒와 piperine의 약리 기전이 PPAR γ 의 발현과 활성 조절을 통해 지방세포 분화를 억제하고, 지질대사와 연관된 비만, 당뇨, 고지혈증 등의 질병에도 연관될 수 있는 가능성을 제시한다.

胡椒 뿐만 아니라 많은 약초들이 지방세포 분화 연구에 초점이 되고 있다. 세계적으로 많이 알려져 있는 향신료뿐만 아니라, 약초로 사용되는 식물의 활성 물질인 phytochemicals, flavonoids 등이 지방세포의 분화를 증진 또는 억제한다는 연구 결과들이 보고되고 있다. 대표적인 예로, 향신료로 사용되는 capsaicin은 지방세포 분화를 억제하며, 비만 유도 쥐의 체중과 혈액내의 TG 수치를 낮추어 비만을 억제한다²⁹⁻³². 胡椒와 그 활성 성분인 piperine이 과콜레스테롤혈증 유도 쥐의 콜레스테롤 수치를 낮추고, 혈당을 감소시킨다는 in vivo 연구 결과들이 보고되어 있으며, 본 연구를 통해 지방세포 분화 억제를 나타낸다는 in vitro 실험 결과를 제시하였다.

다음 연구로 胡椒와 piperine에 의해 발현이 변화되는 유전자들의 패턴 변화를 micro array 등의 방법을 이용하여 분석해 본다면 지질 대사를 조절하여 비만을 치료하는 기전을 밝혀내는데 도움이 될 것이다.

결론

胡椒와 그 성분인 piperine이 지질대사에 관여하는지와 그 분자적 기전을 규명하기 위하여 3T3-L1 세포를 이용한 지방세포 분화실험 (adipocyte differentiation)에 억제 효과를 나타내는지를 검토하고 분화에 관련된 유전자의 발현을 관찰하였다.

胡椒추출물과 piperine은 모두 지방세포 분화를 억제하여 세포 내 지방 축적을 감소시키며, 지방세포 분화 조절과 유지에 증추적인 기능을 하는 PPAR γ 및 SREBP-1c의 발현을 감소시켰다. 또한 지방세포 분화를 알려주는 지표인 adipsin, LPL 유전자의 발현을 억제하였다. 이상의 결과로 胡椒와 piperine은 PPAR γ 의 발현과 활성 조절을 통해 지질 대사에 관여할 가능성이 제시되었다.

참고문헌

- MacDougald, O.A., Lane, M.D. Transcriptional regulation of gene expression during adipocyte differentiation. *Annu Rev Biochem.* 64: 345-373, 1995.
- Trujillo, M.E., Scherer, P.E. Adipose tissue-derived factors: impact on health and disease. *Endocr Rev.* 27(7):762-778, 2006.
- Gregoire, F.M., Smas, C.M., Sul, H.S. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Rev.* 78(3):783-809, 1998.
- 中醫研究院 主編. 中醫症狀鑑別診斷學. 北京, 人民衛生出版社, p 43, 1987.
- 張介賓. 景岳全書. 上海, 上海科學技術出版社, p 194, 1984.
- 焦東海. 全國 第3屆 肥胖病 學術交流會論文綜述. 中醫雜誌. 3: 47-48, 1992.
- 허수영, 강효신. 비만의 동서의학적 고찰과 치료. 대한한방재활의학회지 7(1):272-286, 1997.
- Szallasi, A. Piperine: researchers discover new flavor in an ancient spice. *Trends Pharmacol Sci.* 26(9):437-439, 2005.
- Parmar, V.S., Jain, S.C., Bisht, K.S., Jain, R., Taneja, P., Jha, A., Tyagi, O.D., Prasad, A.K., Wengel, J., Olsen, C.E., et al. Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry.* 46(4):597-673, 1997.
- 이상인. 本草學. 서울, 醫藥社, pp 394-395, 1983.
- Bajad, S., Bedi, K.L., Singla, A.K., Johri, R.K. Antidiarrhoeal activity of piperine in mice. *Planta Med.* 67(3):284-287, 2001.
- Vijayakumar, R.S., Nalini, N. Efficacy of piperine, an alkaloidal constituent from *Piper nigrum* on erythrocyte antioxidant status in high fat diet and antithyroid drug induced hyperlipidemic rats. *Cell Biochem Funct.* 24(6):491-498, 2006.
- Mujumdar, A.M., Dhuley, J.N., Deshmukh, V.K., Raman, P.H., Naik, S.R. Anti-inflammatory activity of piperine. *Jpn J Med Sci Biol.* 43(3):95-100, 1990.
- Srinivasan, K. Black pepper and its pungent principle-piperine: a review of diverse physiological effects. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 47(8):735-748, 2007.
- Lambert, J.D., Hong, J., Kim, D.H., Mishin, V.M., Yang, C.S. Piperine enhances the bioavailability of the tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate in mice. *J Nutr.* 134(8):1948-1952, 2004.
- Sunila, E.S., Kuttan, G. Immunomodulatory and antitumor activity of *Piper longum* Linn. and piperine. *J Ethnopharmacol.* 90(2-3):339-346, 2004.
- Siddiqui, B.S., Gulzar, T., Begum, S., Afshan, F. Piptigrine, a new insecticidal amide from *Piper nigrum* Linn. *Nat Prod Res.* 18(5):473-477, 2004.
- Kozukue, N., Park, M.S., Choi, S.H., Lee, S.U., Ohnishi-Kameyama, M., Levin, C.E., Friedman, M. Kinetics of light-induced cis-trans isomerization of four piperines and their levels in ground black peppers as determined by HPLC and LC/MS. *J Agric Food Chem.* 55(17):7131-7139, 2007.
- Kaleem, M., Sheema Sarmad, H., Bano, B. Protective effects of *Piper nigrum* and *Vinca rosea* in alloxan induced diabetic rats. *Indian J Physiol Pharmacol.* 49(1):65-71, 2005.
- Taqvi, S.I., Shah, A.J., Gilani, A.H. Blood pressure lowering and vasomodulator effects of piperine. *J Cardiovasc Pharmacol.* 52(5):452-459, 2008.
- Jin, Z., Borjihan, G., Zhao, R., Sun, Z., Hammond, G.B., Uryu, T. Antihyperlipidemic compounds from the fruit of *Piper longum* L. *Phytother Res.* 23(8):1194-1196, 2009.
- Faas, L., Venkatasamy, R., Hider, R.C., Young, A.R., Soumyanath, A. In vivo evaluation of piperine and synthetic analogues as potential treatments for vitiligo using a sparsely pigmented mouse model. *Br J Dermatol.* 158(5):941-950, 2008.
- Lee, S.W., Rho, M.C., Park, H.R., Choi, J.H., Kang, J.Y., Lee, J.W., Kim, K., Lee, H.S., Kim, Y.K. Inhibition of diacylglycerol acyltransferase by alkamides isolated from the fruits of *Piper longum* and *Piper nigrum*. *J Agric Food Chem.* 54(26):9759-9763, 2006.
- Kang, M.H., Won, S.M., Park, S.S., Kim, S.G., Novak, R.F., Kim, N.D. Piperine effects on the expression of P4502E1, P4502B and P4501A in rat. *Xenobiotica.* 24(12):1195-1204, 1994.
- Selvendiran, K., Singh, J.P., Krishnan, K.B., Sakthisekaran, D. Cytoprotective effect of piperine against benzo[a]pyrene induced lung cancer with reference to lipid peroxidation and antioxidant system in Swiss albino mice. *Fitoterapia.* 74(1-2):109-115, 2003.
- Gulcin, I. The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. *Int J Food Sci Nutr.* 56(7):491-499, 2005.
- Fajas, L., Schoonjans, K., Gelman, L., Kim, J.B., Najib, J., Martin, G., Fruchart, J.C., Briggs, M., Spiegelman, B.M., Auwerx, J. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression by adipocyte differentiation and determination factor 1/sterol regulatory element binding protein 1: implications for adipocyte differentiation and metabolism. *Mol Cell Biol.* 19(8):5495-5503, 1999.
- Kim, J.B., Spiegelman, B.M. ADD1/SREBP1 promotes adipocyte differentiation and gene expression linked to fatty acid metabolism. *Genes Dev.* 10(9):1096-1107, 1996.
- Zhang, L.L., Yan Liu, D., Ma, L.Q., Luo, Z.D., Cao, T.B., Zhong, J., Yan, Z.C., Wang, L.J., Zhao, Z.G., Zhu, S.J., et al.

- Activation of transient receptor potential vanilloid type-1 channel prevents adipogenesis and obesity. *Circ Res.* 100(7):1063-1070, 2007.
30. Middleton, E. Jr., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev.* 52(4):673-751, 2000.
31. Roh, S.W., Kim, J.B. Effects of Polygonati Rhizoma on the Diet-induced Hyperlipidemia in Rats. *Korean J Oriental Physiology & Pathology.* 22(5):1147-1151, 2008.
32. Zhang, H., Matsuda, H., Nakamura, S., Yoshikawa, M. Effects of amide constituents from pepper on adipogenesis in 3T3-L1 cells. *Bioorg Med Chem Let.* 18(11):3272-3277, 2008.